

완충 용액의 유산 농도와 pH가 법랑질의 재광화에 미치는 영향

권중원 · 서덕규 · 송윤정 · 이윤 · 이찬영*

연세대학교 대학원 치의학과 치과보존학교실

ABSTRACT

THE EFFECT OF LACTIC ACID CONCENTRATION AND pH OF LACTIC ACID BUFFER SOLUTIONS ON ENAMEL REMINERALIZATION

Jung-Won Kwon, Duk-Gyu Suh, Yun-Jung Song, Yun Lee, Chan-Young Lee*

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University.

There are considerable in vitro and in vivo evidences for remineralization and demineralization occurring simultaneously in incipient enamel caries. In order to "heal" the incipient dental caries, many experiments have been carried out to determine the optimal conditions for remineralization. It was shown that remineralization is affected by different pH, lactic acid concentrations, chemical composition of the enamel, fluoride concentrations, etc.

Eighty specimens from sound permanent teeth without demineralization or cracks, 0.15 mm in thickness, were immersed in lactic acid buffered demineralization solutions for 3 days. Dental caries with a surface zone and sub-surface lesion were artificially produced. Groups of 10 specimens were immersed for 10 or 12 days in lactic acid buffered remineralization solutions consisting of pH 4.3 or pH 6.0, and 100, 50, 25, or 10 mM lactic acid. After demineralization and remineralization, images were taken by polarizing microscopy (x100) and micro-computed tomography. The results were obtained by observing images of the specimens and the density of the caries lesions was determined.

1. As the lactic acid concentration of the remineralization solutions with pH 4.3 was higher, the surface zone of the carious enamel increased and an isotropic zone of the subsurface lesion was found. However, the total decalcification depth increased at the same time.
2. In the remineralization solutions with pH 6.0, only the surface zone increased slightly but there was no significant change in the total decalcification depth and subsurface zone.

In the lactic acid buffer solutions with the lower pH and higher lactic acid concentration, there were dynamic changes at the deep area of the dental carious lesion. [J Kor Acad Cons Dent 33(6):507-517, 2008]

Key words: Dental caries, Demineralization, Remineralization, Lactic acid, pH, Polarizing microscopy, Micro-computed tomography.

- Received 2008.5.21., revised 2008.9.1., accepted 2008.9.4-

I. 서 론

치아 우식은 치면 위의 치태 내에 존재하는 세균, 음식물

과 타액의 상호작용으로 산이 생성되어 치질의 파괴가 일어나는 과정으로, 정상적인 구강 환경에서 치아의 무기질은 끊임없는 탈회와 재광화가 되풀이 되면서 항상성을 유지하고 이러한 무기질 교환의 평형이 유지될 때 치아 우식이 예방될 수 있다. 그러나 이런 평형이 깨지는 상태가 지속될 때 비가역적인 치질 손실이 시작되므로 우식을 초기에 발견하고 재광화를 유도하는 것이 바람직하다. 여러 학자들에 의해 초기 법랑질 우식 병소의 재광화가 가능하다는 것이 밝혀졌고, 임상에서의 적용을 목표로 다양한 조건에서 물리

*Corresponding Author: **Chan-Young Lee**
Department of Conservative Dentistry,
College of Dentistry, Yonsei University
134 Shinchon-Dong, Seodaemun-Ku, Seoul, 120-752, Korea
Tel : 82-2-2228-8700 Fax : 82-2-313-7575
E-mail : chanyoungl@yumc.yonsei.ac.kr

화학적 치아 표면에서의 변화가 있음을 밝히기 위한 여러 가지 실험이 계속되어 왔다.

Head 등¹⁾에 의해 산부식된 법랑질의 재광화 현상이 최초로 보고된 이래, in vivo에서 Anderson 등²⁾이 법랑질 초기 우식 병소가 재광화됨을 입증함으로써 구강 내 환경에 따라서는 탈회가 중단되거나 재광화될 수 있음을 보였다. 임상 보고로는 Backer-Dirks³⁾가 8세 아동에서 백색반점이 타액의 재광화 능력으로 1년 후 50% 정도 사라짐을 관찰하여 "reversals of diagnosis"라 하였다.

편광 현미경으로 관찰 시 음성 복굴절을 보이는 우식 표면층의 존재에 대해서는 각기 다른 해석이 존재한다. Brudevold 등⁴⁾은 표층 법랑질 자체의 화학적 특성 때문에 우식에 저항성을 가진다고 하였다. 즉 법랑질의 표면은 내부 법랑질에 비해 불소의 농도, mineral과 아연의 함량이 높고 탄소가 적어서 표면층이 보다 더 우식 저항성을 보인다고 하였다. Christoffersen과 Arends⁵⁾는 구강 내에서 기인된 억제 인자(불소, 인)가 우식 진행 동안 법랑질로 확산되어 표면의 용해를 막는다고 하였으며, 치태내 세균에 의해 생성된 산이 이런 protective surface layer를 통해 확산되어 방해 요소가 작용하지 않는 부위에서부터 산의 탈회를 일으켜 결국 표층하 법랑질만 용해시킨다고 하였다. 그러나 이 가설에 대하여 Aoba⁶⁾, Sperber 등⁷⁾에 의해 반론이 제기되었다. Sperber와 Buonocore⁷⁾는 법랑질의 표면을 일정한 두께만큼 갈아 낸 후에도 우식 표면층이 관찰된다고 보고하였다. 다른 가설로 Moreno 등⁸⁾은 우식 표면층의 형성을 precipitation-dissolution model로써 설명하였는데, 내부에서 용해된 무기질이 농도의 차이에 의해 점차 외부로 확산되는 과정에서 물리 화학적인 기전에 의해 재침착이 일어나기 때문이라고 하였다. 이 설에 의하면 법랑질 표면의 구조는 변하지 않는 안정된 구조가 아니라 하부에서 유리되는 칼슘, 인 등이 재침착되면서 유지된다고 하였다. Featherstone 등⁹⁾은 처음에는 법랑질 표면에 획득피막 같은 protective agent가 흡착되고, 이후 precipitation-dissolution reaction이 생겨 건전표층이 발생한다고 하였다.

재광화 현상의 발견과 여러 실험에서의 재광화 현상을 확인하면서 재광화를 위한 많은 실험 조건의 변화가 제시되어져 왔다. 치아 우식이 우식의 한 방향으로 이루어지는 것이 아니라 우식과 재광화가 동시에 일어나기 때문에 치아 우식의 정도를 변화시키는 여러 조건들이 재광화 실험에서도 같이 고려되어진다.

재광화에 있어 pH의 효과에 대한 많은 연구가 있었으나 아직 논란이 되고 있다. 즉, Feagin 등¹⁰⁾에 의하면 재광화와 완충 용액의 pH 증가 사이에는 비례적 상관 관계가 있다고 하였고, Featherstone¹¹⁾은 재광화에 적당한 pH를 6-8 이라고 보고한 반면, Margolis 등¹²⁾은 1 ppm의 불소가 포함된 산성 용액 처리 시 법랑질의 불소 함유량이 증가한데

반해 중성 용액 처리 시 전혀 불소의 유입이 관찰되지 않음을 보고하고, 이는 재광화에 있어 산성 용액이 중성 용액보다 효과가 있음을 의미한다고 하였다. 그 외에도 치아의 무기질 및 유기질의 화학적 조성, 불소의 농도 등이 치아 우식과 재광화에 영향을 미친다고 알려져 왔을 뿐 정확한 이해가 요구되고 있다.

이에 이 연구는 유산 완충 용액의 pH 및 유산의 농도 변화에 따른 법랑질에서 인공 우식 병소의 재광화 양상을 편광 현미경과 micro-computed tomography (micro-CT)를 이용하여 비교 관찰하였다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 시편 제작

우식이 없고 탈회되지 않은 발거한 구치를 선택하여 치면에 부착된 연조직과 치석을 periodontal curette으로 제거하고 불소가 포함되지 않은 연마제로 치면을 연마한 다음 초음파 세척기로 10분간 세정하고 증류수로 세척 건조하였다.

10 ml 용 실린지를 이용하여 만든 높이 1 cm, 직경 1 cm의 tube에 치과용 아크릴 레진을 이용하여 치근 부위만 매몰하였다. 경화 후 저속 diamond wheel saw (Minitom, Struers, Denmark)를 이용하여 치아 장축에 평행하게 협설측으로 이등분되도록 하여 1/2 치관 부위를 얻고, 나머지 부위는 치아 장축에 평행하게 0.4 - 0.5 mm의 절편을 만든 다음 #800 사포를 이용하여 0.15 mm 두께로 연마하였다. 연마 후 초음파 세척기로 10분간 세정한 후 협설면 쪽의 손상이나 균열이 없는 부위 중 약 2 - 3 mm 정도의 window를 제외하고 bonding agent (Scotchbond MP, 3M, U.S.A.)와 nail varnish를 도포하였다. 먼저 얻은 치관 1/2은 역시 손상이나 균열이 없는 법랑질 부위에 약 2 mm x 2 mm 정도의 window를 형성하고 나머지 부위는 nail varnish를 도포하고 건조시켰다.

2. 실험 용액의 제조

가. Stock 용액의 제조

30% 유산용액 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 90.09, 밀도 1.080)을 이용하여 1 M의 유산용액을 제조하고, 염화칼슘분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 147.0)을 이용하여 0.3 M의 용액을 제조하였다. 그리고 인산칼륨분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 136.1)을 이용하여 0.9 M의 용액을 제조한 다음 각각 용액의 농도를 정량 분석하였다.

나. 탈회 완충 용액의 제조

아래 기술된 Lactic acid, Calcium, Phosphate의 농도가 되도록 stock 용액으로부터 계산된 양을 취하고, 3.08 mM NaN₃를 첨가한 다음 8N 수산화칼륨 표준용액으로 pH meter (Model 920A, Orion Research Inc., U.S.A.) 계측 하에 pH 4.3이 되도록 조절하였다. 위 용액을 ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 각 이온의 농도를 다시 정량 분석하여 이를 시편의 탈회 용액으로 사용하였다.

다. 재광화 완충 용액의 제조

Stock 용액을 이용하여 포화도가 같도록 계산하여 불소가 2ppm 포함되고, 유산의 농도가 다른 8개의 재광화 용액에 3.08mM NaN₃를 첨가하고, 8N 수산화칼륨 표준용액으로 pH 4.3 혹은 6.0이 되도록 하였다. 위 용액을 ion chromatography로 정량 분석한 다음 재광화 용액으로 이용하였다.

3. 법랑질 인공 우식의 형성 및 관찰

각 군당 10개의 시편을 실험하였고, 한 치아로부터 얻은 3개 혹은 4개의 시편이 각 군당 고르게 분포하도록 하였다.

50ml 플라스틱 통에 탈회 완충용액 30ml을 채우고 시편이 잠기도록 설치한 후 섭씨 25℃ 항온조에 3일간 반응시켰

Table 1. Initial composition of demineralization solution

Composition	Concentration
Lactic acid (mM)	100
Calcium (mM)	15
Phosphate (mM)	9.5
Sodium azide (mM)	3.08
pH	4.3
Degree of saturation	0.155

Table 2. Initial composition of remineralization solutions

Composition	Group							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Lactic acid (mM)	100	50	25	10	100	50	25	10
Calcium (mM)	27.2	17	30	15	0.8	0.6	0.5	0.4
Phosphate (mM)	9.9	12	10	7.5	0.5	0.35	0.25	0.2
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08	3.08	3.08	3.08	3.08	3.08
Fluoride (ppm)	2	2	2	2	2	2	2	2
pH	4.3	4.3	4.3	4.3	6	6	6	6

다. 일부 시편은 편광 현미경 (I221, 동원정밀, 한국) 하에서 증류수에 침윤시켜 배울 100배인 상태에서 디지털 카메라 (Coolpix 950 Nikon corporation, Japan)로 0일, 1일, 2일, 3일째 사진 촬영하였다. 나머지 시편은 3일째 micro-computed tomography (SKYSCAN 1076 High resolution in-vivo micro-CT system, Micro Photonics, U.S.A.)로 spatial resolution을 0.009mm로 설정하여 촬영을 시행하였다.

4. 법랑질 인공 우식의 재광화 및 관찰

50ml 플라스틱 통에 재광화 완충용액 30 ml을 채우고 시편이 잠기도록 설치한 후 섭씨 25℃ 항온조에 10일 (Group 1, 2, 3, 4) 혹은 12일 (Group 5, 6, 7, 8)간 반응시키고, 이 때 용액을 2일 간격으로 교체하였다. 0.15mm 시편은 매일 편광 현미경 하에서 증류수에 침윤시켜 배울 100배인 상태에서 관찰 및 촬영하고, 나머지 치관 1/2의 형태는 10일 혹은 12일 후 spatial resolution을 0.009mm로 설정하여 micro-CT로 촬영하였다.

5. 실험 자료의 분석

편광 현미경을 이용하여 시편을 100배로 관찰하고 현미경에 연결된 디지털 카메라로 촬영한 후, 전체 탈회 깊이의 평가를 위해 임의의 각기 다른 지점에서 다섯 부위를 선택하여 표면층에서 양성 복굴절 끝까지 수직 길이를 측정하고 0.01mm 표시된 슬라이드로 촬영한 상과 그 길이를 환산하여 각 군간 평균값을 계산하였다. 또한 우식 표면층 깊이는 표면에서 우식 표면층의 음성 복굴절 끝까지의 수직 길이를 위와 같은 방법으로 산출하였다. 이후 전체 탈회 깊이 변화율은 재광화 후 전체 탈회 깊이를 탈회 후 전체 탈회 깊이로 나누어 백분율로 확인하였고, 우식 표면층 깊이 변화율도 재광화 후 우식 표면층 깊이를 탈회 후 우식 표면층 깊이로 나누어 백분율로 확인하였다.

Micro-CT로 촬영하고 NRecon 프로그램 (Micro Photonics, U.S.A.)을 이용하여 상을 얻은 후, Photoshop 프로그램 (Adobe, U.S.A.)을 이용하여 재광화 전과 후의 동일 slice를 중첩시켜 동일 면적을 얻어 Scion Image program으로 density를 측정하고 Spread sheet program (Excel, Microsoft, U.S.A.)으로 graph를 재구성하여 비교하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 편광 현미경의 관찰 소견

가. 법랑질 탈회 소견

편광 현미경에서 물에 침윤하여 100배로 관찰한 결과, 전반적으로 우식 표면층은 비교적 연속적으로 관찰되었다. 법랑질 초기 우식 병소의 특징적인 건전 표층 (surface zone)과 표층하 탈회부 (subsurface lesion)를 관찰할 수 있었는데, 건전 표층은 정상 법랑질과 같은 음성 복굴절을 나타내었고, 병소 본체는 황갈색으로 관찰되었으며 양성 복굴절 양상을 보였다.

나. 법랑질 재광화 소견

1) pH 4.3 재광화 용액 : Group 1, 2, 3, 4간 비교

우식 표면층의 경우 Group 1에서는 불연속적으로 형성된 건전 표층이 재광화가 진행됨에 따라 음성 복굴절 양상이 증가하여 연속성이 증가하거나, 건전표층이 더 뚜렷해짐을 보였고, 건전 표층부의 두께도 증가함을 보였다. (Figure. 2) Group 2에서는 음성 복굴절의 증가로 연속성이 더 향상됨을 보이나, Group 1의 변화보다는 그 정도가 적었다. (Figure. 4) Group 3 (Figure. 6)과 4 (Figure. 8)에서는 건전 표층의 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었다.

표층하 탈회부의 경우 Group 1에서는 그 깊이는 증가하였지만, 동시에 병소 중앙부의 최외곽에서는 탈회 양상과 동시에 isotropic zone이 두껍게 자리 잡았다. (Figure. 2) 이에 반해 Group 2 (Figure. 4), 3 (Figure. 6), 4 (Figure. 8)에서는 isotropic zone과 같은 재광화 양상을 확인할 수는 없었다.

Group 1에서 전체 탈회 깊이의 변화율은 117.4 %로 재광화 기간이 증가함에 따라 더 증가함을 보였고, 2군은 109.4 %, 3군은 106.6 %, 4군은 104.1 %로 전체 탈회 깊이가 증가량은 점차 줄었다. (Figure. 17)

우식 표면층 깊이 변화는 1군에서 116.2 %로 재광화 후 우식 표면층이 증가했음을 보여주고, 2군에서는 103.8 %로 우식 표면층 증가량이 1군에 비해 줄었으며, 3군과 4군에서는 재광화 전후 큰 변화가 없었다. (Figure. 19)

2) pH 6.0 재광화 용액 : Group 5, 6, 7, 8간 비교

우식 표면층의 경우 Group 5에서는 불연속적으로 형성된 건전 표층이 재광화 후 연속성을 더 확보하게 되었으나 건전 표층 깊이의 변화는 없었다. (Figure. 10) Group 6 (Figure. 12), 7 (Figure. 14), 8 (Figure. 16)에서는 연속성의 정도에서도 큰 변화는 없었다.

표층하 탈회부의 경우 Group 5, 6, 7, 8에서 뚜렷한 깊이 증가도 없었고, Group 1에서 관찰되는 isotropic zone도 관찰되지 않았다.

전체 탈회 깊이 변화율은 99.8 % 등 거의 탈회 후와 재광화 후 변화가 없음을 보여주고 있었다. (Figure. 18)

우식 표면층 깊이 변화는 5군에서 104.1 %로 재광화 후 약간의 증가를 보이고, 6, 7, 8군에서는 거의 변화가 없었다. (Figure. 20)

3) pH 4.3과 pH 6.0 재광화 용액에서의 비교

같은 유산 농도에서 다른 pH간 실험 결과를 비교하여 보면, pH 4.3일 때 재광화 진행에 따라 탈회 깊이의 증가를 보이는 반면, pH 6.0인 경우는 변화가 없었다.

2. Micro-CT의 관찰 소견

가. 법랑질 탈회 소견

우식 표면층은 nail varnish를 적용하여 탈회가 일어나지 않은 표면과 연속성을 보이는 것처럼 관찰되며, 표층하 탈회부는 낮은 density로 우식 표면층 하방으로 관찰되어진다. 이것 역시 편광 현미경에서의 관찰과 유사하게 비교적 균일한 두께의 완만한 모습을 보였다.

나. 법랑질 재광화 소견

1) pH 4.3 재광화 용액 : Group 1, 2, 3, 4간 비교

Group 1에서는 재광화 후 곡선에서 초반 피크가 올라감을 볼 수 있는데 이는 전형적인 우식 표면층 무기질 침착을 보이는 density의 뚜렷한 증가로 보여지고, 심층부에서는 약간의 무기질 소실이 보였다. (Figure. 21) Group 2에서는 그런 초반 피크의 변화량이 Group 1 보다는 적었고 (Figure. 22), Group 3 (Figure. 23), 4 (Figure. 24)에서는 Group 1에서 보여지는 뚜렷한 우식 표면층 무기질 침착을 볼 수는 없었다. 2) pH 6.0 재광화 용액 : Group 5, 6, 7, 8간 비교

Group 5에서는 Group 1에서 보여지는 재광화 곡선에서의 초반 올라가는 피크를 볼 수 있는데 그 양은 Group 1 보다는 많지 않았으며 (Figure. 25), 심층부에서는 큰 무기질 소실을 관찰할 수 없었다. Group 6 (Figure. 26), 7 (Figure. 27), 8 (Figure. 28)에서는 Group 5에서 보여지는 우식 표면층 무기질 침착을 볼 수 없었고, 심층부 무기질 소실도 크지 않았다.

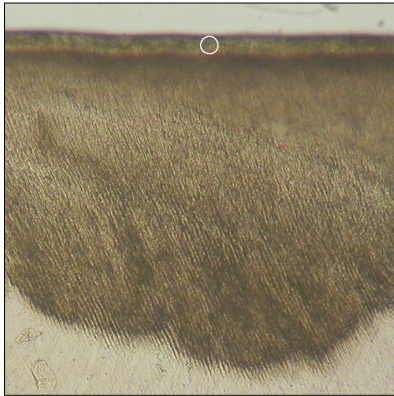


Figure 1. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 1, x100)
The white circle indicates surface zone.

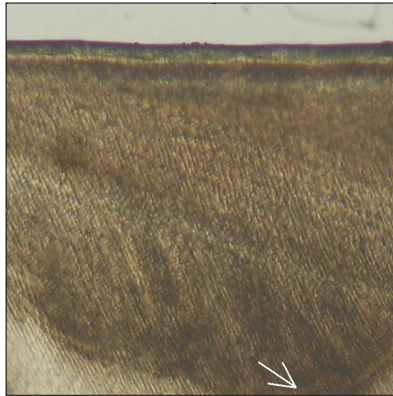


Figure 2. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 100 mM lactic acid buffer. (pH 4.3 : Group 1) The white arrow indicates isotropic zone.

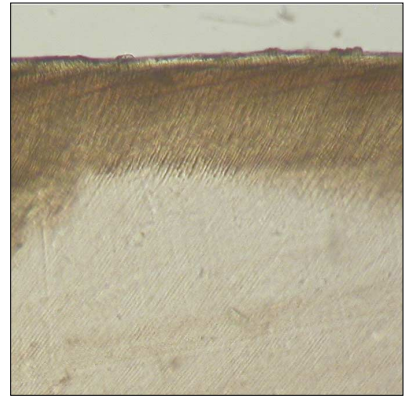


Figure 3. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 2, x100)

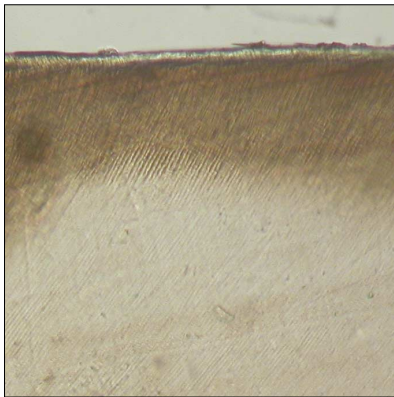


Figure 4. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 50 mM lactic acid buffer. (pH 4.3 : Group 2)

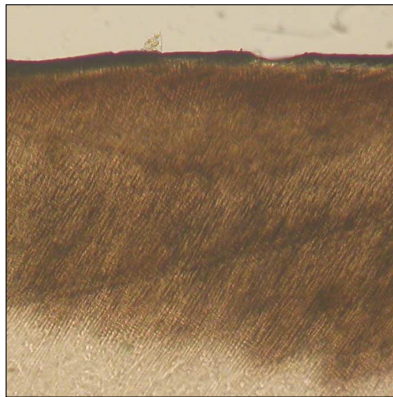


Figure 5. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 3, x100)

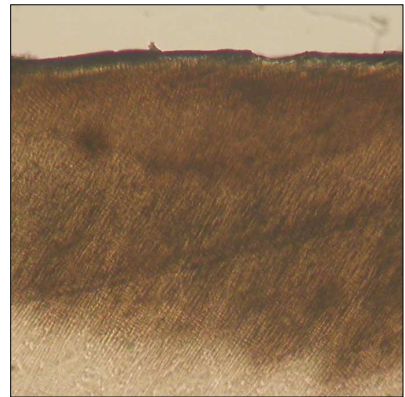


Figure 6. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 25 mM lactic acid buffer. (pH 4.3 : Group 3)

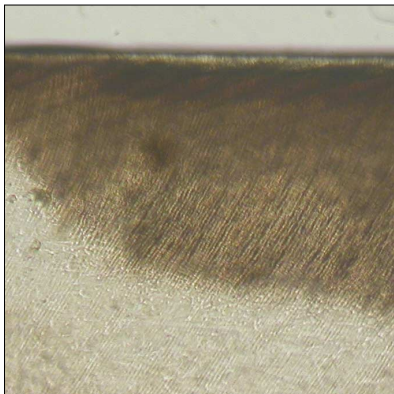


Figure 7. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 4, x100)

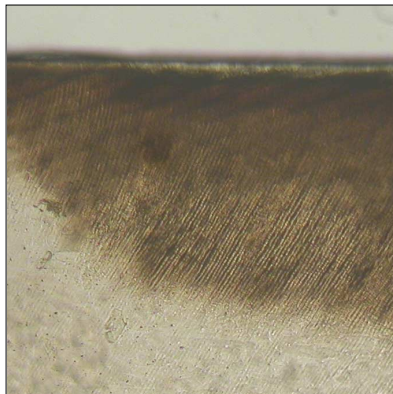


Figure 8. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 10 mM lactic acid buffer. (pH 4.3 : Group 4)

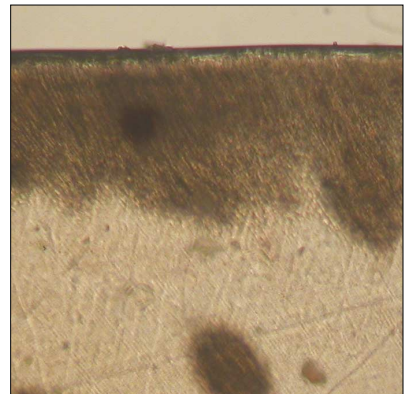


Figure 9. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 5, x100)

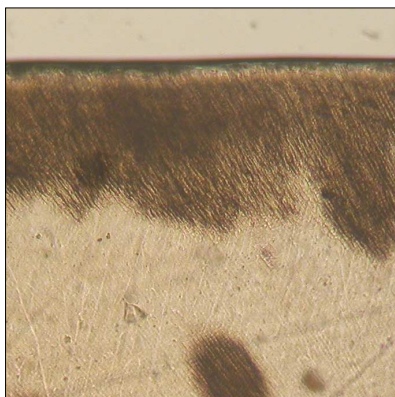


Figure 10. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 100 mM lactic acid butter. (pH 6.0: Group 5)

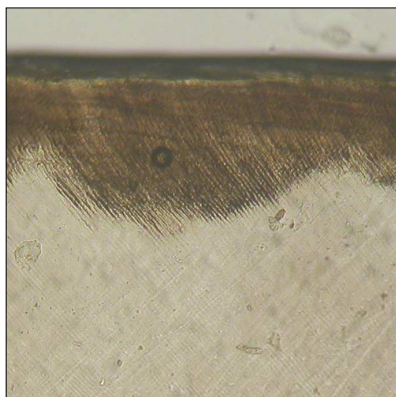


Figure 11. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 6, x100)

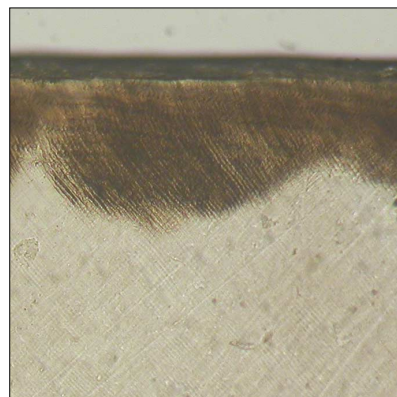


Figure 12. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 50 mM lactic acid buffer. (pH 6.0 : Group 6)

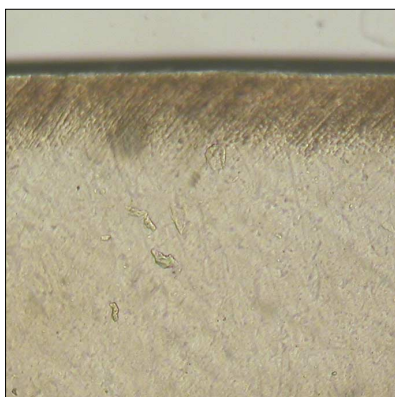


Figure 13. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 7, x100)

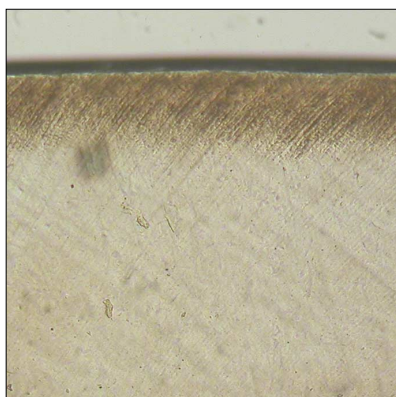


Figure 14. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 25 mM lactic acid buffer. (pH 6.0 : Group 7)

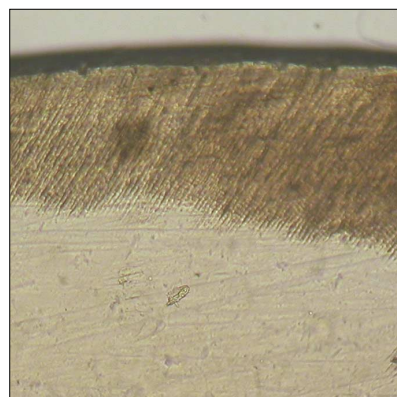


Figure 15. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel. (Group 8, x100)

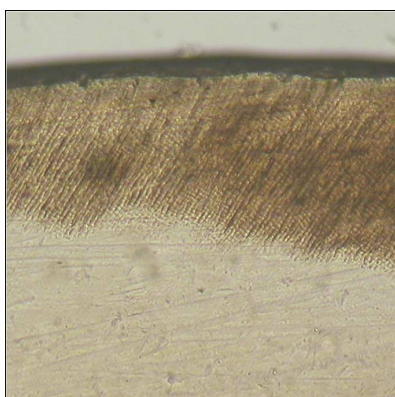


Figure 16. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel with 10 mM lactic acid buffer. (pH 6.0 : Group 8)

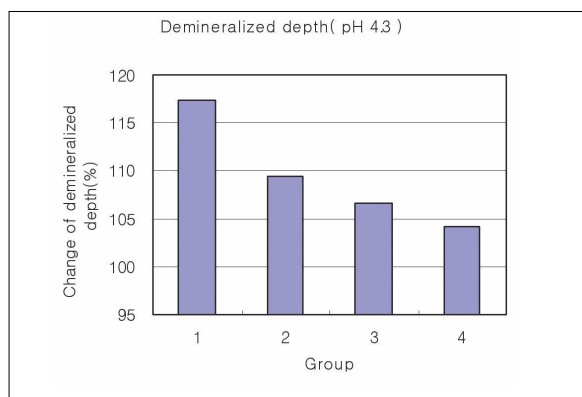


Figure 17. Demineralized depth at pH 4.3 solutions. (demineralized depth after remineralization/demineralized depth after demineralization) x 100 (%)

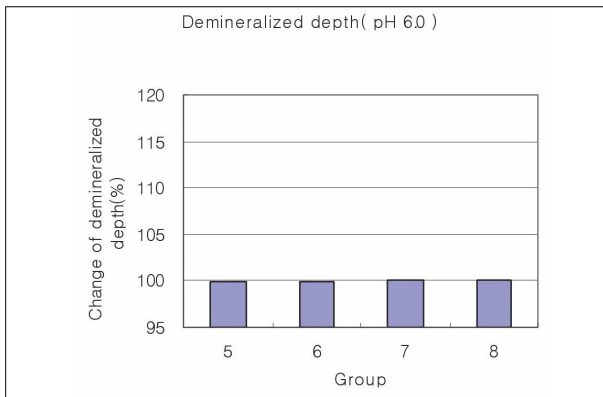


Figure 18. Demineralized depth at pH 6.0 solutions. (demineralized depth after remineralization/ demineralized depth after demineralization) x 100 (%)

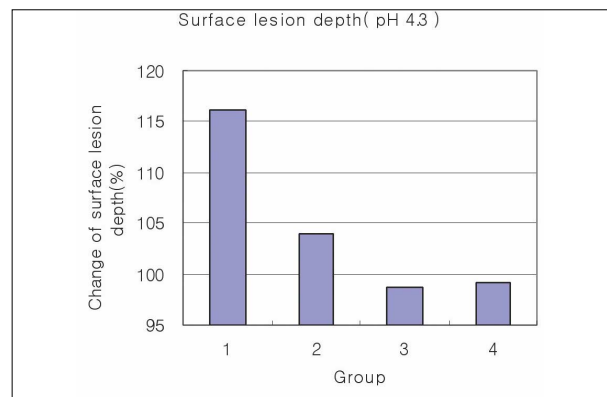


Figure 19. Surface lesion depth of dental carious in enamel at pH 4.3 solutions. (depth of surface lesion after remineralization/depth of surface lesion after demineralization) x 100 (%)

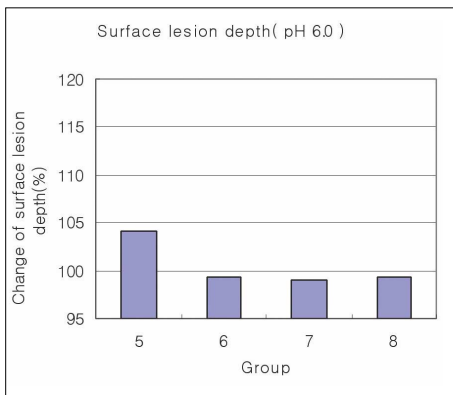


Figure 20. Surface lesion depth of dental carious in enamel at pH 6.0 solutions. (depth of surface lesion after remineralization/depth of surface lesion after demineralization) x 100 (%)

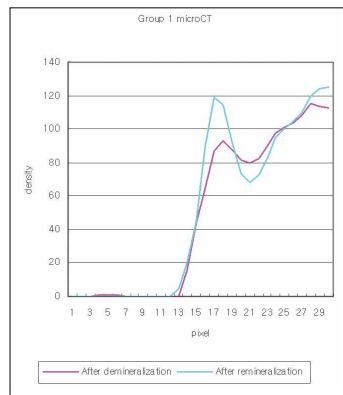


Figure 21. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 100 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 4.3 : Group 1)

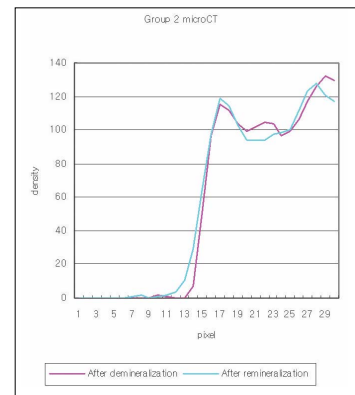


Figure 22. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 50 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 4.3 : Group 2)

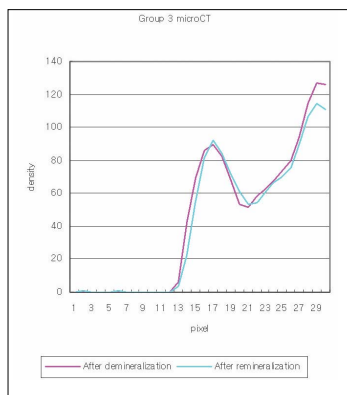


Figure 23. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 25 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 4.3 : Group 3)

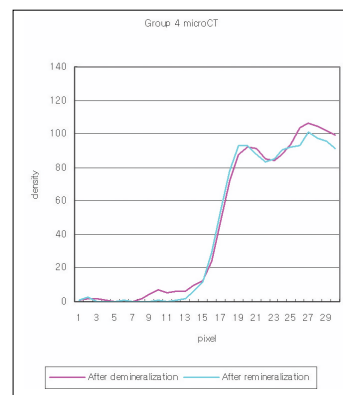


Figure 24. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 10 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 4.3 : Group 4)

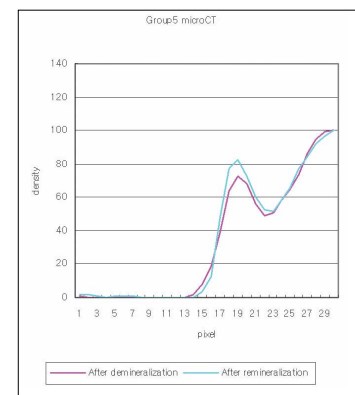


Figure 25. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 100 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 6.0 : Group 5)

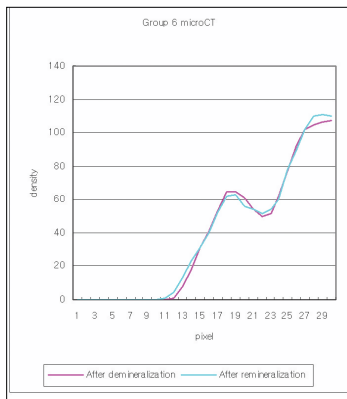


Figure 26. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 50 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 6.0 : Group 6)

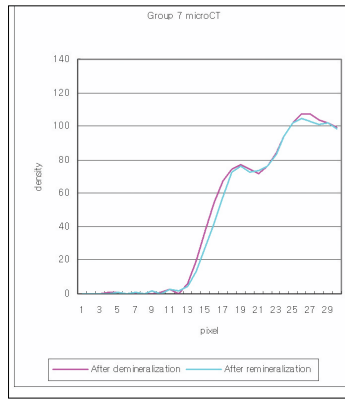


Figure 27. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 25 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 6.0 : Group 7)

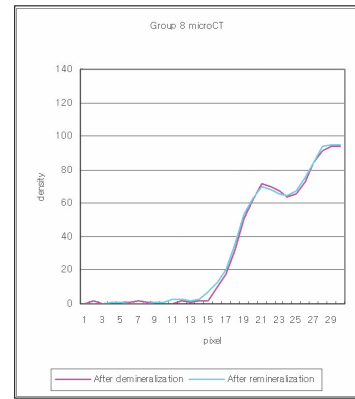


Figure 28. Comparison of density in enamel before and after remineralization with 10 mM lactic acid buffer by micro-CT. (pH 6.0 : Group 8)

IV. 총괄 및 고찰

법랑질 우식은 탈회와 재광화의 한 방향으로 진행된 산물이 아닌 탈회와 재광화가 반복되어 일어난 결과라는 것이 밝혀졌다. 초기 법랑질 우식의 재광화 현상에 대해 많은 실험실 내 연구와 임상적인 증례를 토대로 재광화에 영향을 미치는 많은 인자들을 알아보기 위한 실험이 진행되어 왔다.

일반적으로 재광화의 진행 양상은 우식 병소 전체 깊이가 감소하는 소견과 우식 표면층의 계속적인 증가 형태로 관찰되는데, 우식 병소 전체에 무기질이 침착하여 탈회가 적게 일어났던 병소의 가장자리부터 재광화 되는 양상을 보인다. 조직학적으로 우식 표면층은 1-5%, 우식 표면하층의 가장 자리는 5%, 병소 자체는 25% 정도의 세공이 공간을 차지하는데, 무기질이 침착함에 따라 세공이 차지하는 비율이 작은 가장자리에서부터 먼저 세공이 감소하면서 변화를 보이고, 우식 표면하층도 세공의 공간이 작았던 부위로부터 무기질이 침착하면서 세공의 부피가 감소하여 isotropic zone이 증가하는 양상을 보인다. 물을 용매로 편광 현미경 하에서 관찰시 5 %보다 적은 공간 존재 시에는 음성 복굴절 또는 고유 복굴절로 관찰되고, 5 %의 공간 존재 시에는 isotropic zone으로 관찰되었고, 5 %보다 많은 공간이 있는 경우는 양성 복굴절로 관찰된다고 하였다.¹³⁾ Silverstone 등¹⁴⁾도 이러한 isotropic zone이 재광화가 일어남과 함께 우식 병소의 가장자리로부터 법랑 표면 쪽으로 급격히 증가함을 보고하였는데, 양성 복굴절의 우식 병소가 이러한 isotropic zone을 거쳐 음성 복굴절의 정상 법랑질로 재광화됨을 의미한다고 하였다. 이 실험에서도 Group 1에서 전형적인 isotropic zone을 관찰할 수 있었다.

이 실험에서 사용한 탈회 용액과 재광화 용액의 pH, 포화도, 유산의 농도 등은 법랑질에 대해 여러 가지 조건을 변화

시켰던 이전의 실험 결과를 토대로 조성하였는데, 우선 시편의 탈회 과정에서는 이전의 연구 결과를 바탕으로 pH를 4.3으로 정하였다. 박 등¹⁵⁾, 오 등¹⁶⁾의 실험에서 인공 우식 부위가 와동의 형성 없이 법랑질에서 표면하층이 관찰되면서 우식이 가장 잘 일어날 수 있는 pH로 정한 것이다. 이¹⁷⁾의 실험에서 산의 농도가 일정해도 칼슘과 인의 포화도가 변화함에 따라 와동의 형성, 탈회, 표면하 병소의 형성, 무변화의 모든 현상이 나타났는데 이중 표면하층은 0.144와 0.159 사이에서 가장 잘 형성되었다는 보고에 따라 이 실험에서 포화도는 0.155로 정하였다.

이 실험의 재광화 용액에서 유산의 농도를 100, 50, 25, 10 mM로 달리하는 군을 제조하였는데, 여기서 유산은 탈회 현상을 일으킨다. 초기 치아 우식의 진행에 영향을 미치는 요소로 Gray와 Francis¹⁸⁾는 이온화 되지 않은 산의 농도와 pH, 산의 해리 상수 등이 영향을 준다고 하였으며, Featherstone 등¹⁹⁾은 이온화되지 않은 산의 농도가 가장 중요한 요소라 하였다. Henderson-Hasselbalch의 공식에 의하여 이온화되지 않은 상태의 산의 농도를 구할 수 있는데 pH가 4.3으로 일정할 때 유산의 농도가 증가함에 따라 비이온화된 형태의 유산 농도도 증가함을 보여준다. 따라서 Group 1이 2, 3, 4군에 비해 이온화되지 않은 산의 농도가 증가하여 진행되는 탈회 깊이를 보였다고 보여진다. 이에 비해 Group 5, 6, 7, 8인 경우 pH가 6.0으로 높아지면서 유산의 농도가 100 mM이라 하더라도 비이온화된 산의 농도가 pH 4.3, 유산의 농도가 10 mM (Group 4)일 때보다 더 낮음으로써 탈회 즉 침투 능력이 약화되었음을 짐작할 수 있다.

재광화에 대한 pH의 영향에 대해서는 많은 연구가 있었으나 아직 많은 의견이 있다. Featherstone 등²⁰⁾은 재석회화에 있어 최적의 pH는 무기질의 침착이 가능하며 법랑질

의 용해가 일어나지 않는 6-8정도의 pH라고 하였다. Margolis 등¹³⁾은 1 ppm의 불소가 포함된 탈회 용액과 중성 용액에 노출된 법랑질을 biopsy하여 탈회 용액 처리 시 총광물질의 손실이 관찰되지 않고 법랑질의 불소 함유량이 증가한데 반해 중성 용액 처리 시 전혀 불소의 유입이 관찰되지 않음을 보고하였다. 이는 재광화에 있어 산성 용액이 중성 용액보다 효과가 있음을 의미하는 것이다. Moreno와 Margolis 등²¹⁾은 치태 내의 pH는 5.69로 타액이나 혈액의 pH 6.7, 7.35보다 낮았으며, Nikiforuk²²⁾는 치아 우식 유발 미생물 중 가장 큰 역할을 하는 *S. mutans*에 의해 sucrose가 분해되어 lactic acid가 형성되면 이 산에 의해 pH는 4.3까지 떨어진다 하였다. 따라서 칼슘과 인이 포화된 ion activity product는 pH에 따라 달라지게 되고, 칼슘 농도, 불소 이온과도 상호 연관성을 가지게 된다.

재광화에 대한 불소의 역할에 대한 논란이 계속되어지고 있는데 불소 첨가 시 fluoroapatite의 형성으로 유기산에 대한 용해 저항성이 증가한다고 여겨지나, 그 양에 대해서는 논란이 있다. 한 등²³⁾은 불소 농도를 달리한 재광화 실험에서 2 ppm일 때 1이나 4 ppm일 때보다 뚜렷한 재광화 양상을 보였다고 보고하고, 박 등¹⁵⁾의 실험에서도 2 ppm의 불소를 첨가 시 재광화 현상을 관찰하였다고 보고한 바 이 실험에서는 불소 2 ppm을 모든 재광화 실험 용액군에 포함시켰다.

이 실험에서 탈회된 시편을 재광화 시키기 위하여 불소 농도를 2 ppm, pH를 4.3 혹은 6.0으로 정하고 칼슘과 인 이온 농도에 의한 포화도를 일정하게 하였는데 재광화 용액 중 pH를 4.3으로 정한 것은 이전의 실험에서 중성에 가까운 pH 실험에서 재광화 시 무기질의 침착이 표층 부위에 국한되어 일어났기 때문에 탈회의 과정과 동시에 탈회된 병소의 심층부에서의 무기질 침착 효과를 보기 위하여 pH 4.3인 Group 1, 2, 3, 4군을 시행하였다. 또한 이에 대한 대조로 pH 6.0인 Group 5, 6, 7, 8도 시행하였다. Group 5, 6, 7, 8군에 비해 pH 4.3인 Group 1에서는 심부에 isotropic zone이 뚜렷이 형성됨을 관찰할 수 있어 심부까지의 변화를 입증할 수 있었다.

박 등¹⁵⁾의 실험에서 포화도가 가장 높은 군에서 심부보다 표층에 국한되어 재광화가 일어난 것을 보고하였는데 이렇게 표층에 침착된 무기질은 결국 심부의 재광화 현상에 있어서 무기질 침투를 방해하는 기능을 하기 때문에 탈회 병소의 완전한 재광화를 억제할 가능성이 있다고 하였다. 이에 이 실험에서는 심부의 변화를 확인하고자 전체 실험군의 포화도를 낮게 형성하였다. Group 1에서는 포화도는 낮지만, 비이온화된 유기산의 양이 많고, pH가 4.3으로 심부까지의 변화를 유발할 수 있게 한 반면, Group 4로 갈수록 탈회와 관련된 비이온화된 유기산의 양도 적고, 포화도도 낮기 때문에 오히려 재광화 현상이 덜 일어났다고 여겨진다.

그리고 시편을 재광화 용액에 계속 적용시 탈회 현상을 보였는데 이는 재광화 용액의 pH를 4.3으로 낮게 설정했기 때문으로 여겨지며, 김 등²⁴⁾의 실험에서 알 수 있듯이 pH가 높은 경우 더 많은 재광화를 기대할 수 있을 것이라 여겨진다. Group 5, 6, 7, 8인 경우 pH가 6.0으로 심부보다는 표층에 국한된 변화를 예상할 수 있는데, 비교적 비이온화된 유기산의 양이 많아 탈회 현상을 많이 동반할 수 있는 Group 5에서는 포화도가 낮지만 표면층의 연속성이 증가하는 등의 재광화 현상을 관찰할 수 있었고, 나머지 6, 7, 8군에서는 비이온화된 유기산의 양이 극히 적어 큰 변화를 기대할 수 없었다고 여겨진다.

이 실험에서 탈회와 재광화를 거친 후 평가하는 방법으로 크게 두 가지를 선택하였는데, 하나는 0.15 mm의 시편을 이용한 편광 현미경 관찰이었고, 나머지는 micro-CT를 이용한 탈회 부위의 평가였다. Micro-CT를 이용하여 상을 얻은 후 Photoshop program을 이용하여 재광화 전과 후의 상을 겹쳐서 동일 면적을 얻은 다음 Scion Image program을 이용하여 density를 얻고 그 수치를 Spreadsheet program (Excel)을 이용하여 다시 graph로 구성하여 비교한 바 육안으로 확인된 내용보다 더 정확한 수치를 통한 비교가 가능하였다.

이번 실험에서는 같은 pH에서 유산의 농도를 다르게 했을 때의 현상을 확인하였는데, 유산의 농도 범위를 더 좁혀 시행할 필요가 있으며, 유산과 pH와의 관계를 다각적으로 설정하고 해석할 필요가 있겠다. 즉, 표면층에 국한된 재광화가 아닌 심부까지 도달하는 재광화를 일으킬 수 있는 동시에 탈회 깊이는 줄일 수 있는 최적의 조건을 찾는 노력이 계속되어야 한다. 또한 탈회나 재광화의 현상 관찰시 주로 탈회 깊이나 형성된 표면층의 두께에 대한 연구가 주로 되어 왔는데, 재광화되는 심부의 변화를 알기 위하여서는 촬영된 이미지의 density를 측정함으로써 육안으로 확인할 수 없는 것들의 변화를 관찰하는 실험이 필요하리라 생각된다.

V. 결 론

이 연구에서는 유산 완충 탈회 용액을 이용하여 법랑질을 탈회시키고, 유산의 농도가 100, 50, 25, 10mM이고 pH가 4.3인 네 가지의 재광화 용액에 10일, pH 6.0인 네 가지의 재광화 용액에 12일간 처리하여 나타나는 무기질의 양적 변화를 편광 현미경에서 얻은 상에서의 탈회 깊이, 우식 표면층 깊이로 측정하였다. 또한 micro-CT를 이용하여 탈회와 재광화 후를 촬영하여 얻은 상으로부터 lesion 부위의 평균 density를 비교하였다.

1. pH 4.3에서 유산 농도가 증가할수록 우식 표면층의 증가와 표층 탈회부 중 심층부의 isotropic zone 등

의 재광화 현상을 보이거나, 전체 탈회 깊이 역시 증가하였다.

2. pH 6.0에서 우식 표면층에 국한된 재광화 현상을 보이고, 전체 탈회 깊이는 변화가 없었다.

이 실험 결과 포화도가 일정한 유산 완충 용액으로 재광화 유도시 pH가 낮고 유산의 농도가 높을수록 표면으로부터 심층부 동역학적 변화에 더 영향을 주었으며, micro-CT를 이용한 우식 병소 부위의 density 확인을 통해 무기질의 침착과 방출 현상을 객관적으로 평가할 수 있었다.

참고 문헌

1. Head J.A. A study of saliva and its action on tooth enamel in reference to its hardening and softening. J Am Med Assoc 59:2118-2122, 1912
2. Anderson, B.G. Clinical study of arresting dental caries. J Dent Res 17:443-452, 1938
3. Backer Dirks O. Posterupted changes in dental enamel. J Dent Res 45:503-511, 1966
4. Brudevold F., McCann H.G. Enamel solubility tests and their significance in regard to dental caries. Ann.N.Y.Acad.Sci. 153:20-51, 1968
5. Christoffersen J., Arends J. Progress of artificial carious lesions in enamel. Caries Res 16:433-439, 1982
6. Aoba T., Okazaki M., Takahashi J., Moriwaki Y. X-ray diffraction study on remineralization using sythetic hydroxyapatite pellets. Caries Res 12:223-230, 1978
7. Sperber G.H., Buonocore M.G. Enamel surface in white spot formation. J Dent Res 42:724-731, 1963
8. Moreno E.C., Zahradnik R.T. Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. J Dent Res 53:226-235, 1974
9. Featherstone J.D.B., Duncan J.F., Cutress T.W. A Mechanism for dental caries based on chemical process and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel. Arch Oral Biol 24:101-112, 1979
10. Feagin F., Patel P.R., Koulourides T., Pigman W. Study of the effect of calcium, phosphate, fluoride and hydrogen ion concentrations on the remineralization of partially demineralized human and bovine enamel surfaces. Arch Oral Biol 16:535-548, 1971
11. Featherstone J.D.B., Mellerg J.R. Relative rates of progress of artificial caries lesions in bovine, ovine and human enamel. Caries Res 15(1):109-114, 1981.
12. Margolis H.C., Moreno E.C., Murphy B.J. Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization. J Dent Res 65:23-29, 1986
13. Darling AI. Studies of the early lesions of enamel caries its nature, mode of spread and points of entry. Brit Dent J 8:119-135, 1958
14. Silverstone L.M., Wefel J.S., Zimmerman B.F., Clarkson B.H., Featherstone M.J. Re-mineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel in vitro effect of calcium concentration of the calcific fluid. Caries Res 15:138-157, 1981
15. 박정원, 허복, 이찬영. 유기산 완충 용액의 포화도가 법랑질 및 상아질의 재광화에 미치는 영향과 산화인화석의 AFM 관찰. 대한치과보존학회지 25:459-473, 2000
16. 오현석, 금기연, 노병덕, 이찬영. 산 완충 용액의 pH가 인공치근우식의 형성에 미치는 영향. 대한치과보존학회지 24:495-502, 1999
17. 이찬영. 산완충용액을 이용한 인공치아우식형성. 연세치대논문집 7:34-41, 1992
18. Gray J.A. & Francis M.D. Physical chemistry of enamel dissolution, Mechanism of hard tissue destruction. (American Association of Advances in Science, Washington) Publ. No 75:213, 1963
19. Featherstone J.D.B., Duncan J.F., Cutress T.W. Crystallographic changes in human tooth enamel during in vitro caries simulation. Arch Oral Biol 23:405-413, 1978
20. Featherstone J.D.B., Rodgers B. E., Smith M.W. Physicochemical requirements for rapid remineralization of early carious lesions. Caries Res 15:221-235, 1981
21. Moreno E.C., Margolis H.C. Composition of Human plaque fluid. J Dent Res 67:1181-1189, 1988
22. Nikiforuk G. Fluoride dentifrices and fluoride rinses. Understanding dental caries Vol. 11. Prevention :87-112, Karger, Basel and New York, 1985
23. 한원섭, 금기연, 이찬영. 인공치아우식의 재광화에 미치는 불소의 영향. 대한치과보존학회지 21:161-173, 1996
24. 김민경, 금기연, 이찬영. 법랑질 인공우식의 재광화에 미치는 pH의 영향에 한 연구. 대한치과보존학회지 22:193-208, 1997

국문초록

완충 용액의 유산 농도와 pH가 법랑질의 재광화에 미치는 영향

권중원 · 서덕규 · 송윤정 · 이윤 · 이찬영*

연세대학교 대학원 치의학과 치과보존학교실

본 연구의 목적은 유산 완충 용액의 pH 및 유산 농도 변화가 법랑질에서 인공 우식 병소의 재광화 양상에 미치는 영향을 평가하기 위함이다. 유산 완충 용액을 이용하여 법랑질을 탈회시키고, 유산의 농도가 100, 50, 25, 10 mM이고 pH가 4.3인 네 가지 재광화 용액 (Group 1, 2, 3, 4)에 10일, pH 6.0인 네 가지 재광화 용액 (Group 5, 6, 7, 8)에 12일간 처리한 후 무기질의 양적 변화를 편광 현미경에서 얻은 상에서의 탈회 깊이의 변화, 우식 표면층 깊이의 변화로 측정하였다. 또한 micro-computed tomography (micro-CT) 를 이용하여 탈회 후와 재광화 후를 촬영하여 얻은 상으로부터 lesion 부위의 density를 비교하였다.

1. pH 4.3에서 유산 농도가 증가할수록 우식 표면층의 증가와 표층하 탈회부 중 심층부의 isotropic zone 등의 재광화 현상을 보이거나, 전체 탈회 깊이 역시 증가하였다.

2. pH 6.0에서 우식 표면층에 국한된 재광화 현상을 보이고, 전체 탈회 깊이는 변화가 없었다.

이상의 실험 결과로 미루어 포화도가 일정한 유산 완충 용액으로 재광화 유도시 pH가 낮고 유산의 농도가 높을수록 표면으로부터 심층부 동역학적 변화에 더 영향을 주었으며, micro-CT를 이용한 우식 병소 부위의 density 확인을 통해 무기질의 침착과 방출 현상을 객관적으로 평가할 수 있었다.

주요단어 : 법랑질, 재광화, pH, 유산, 편광현미경, Micro-computer tomography